Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire
Pest Management Regulatory Agency

Note réglementaire

REG2002-01

Fongicide biologique RootShield
Trichoderma harzianum Rifai souche KRL-AG2

La matière active du fongicide biologique technique RootShield et ses préparations commerciales, le fongicide biologique en poudre mouillable RootShield Drench et le fongicide biologique RootShield Granules, renfermant la souche KRL-AG2 de *Trichoderma harzianum* Rifai pour la suppression des maladies transmises par le sol aux cultures en serre (tomates, concombres et plantes ornementales) ont reçu une homologation temporaire en vertu de l'article 17 du *Règlement sur les produits antiparasitaires*.

Cette note réglementaire présente un sommaire des données examinées et expose les raisons qui justifient la décision réglementaire touchant ces produits biopesticides.

(also available in English)

Le 4 juin 2002

Ce document est publié par la Division de la documentation et de la coordination des demandes d'homologation, Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire. Pour de plus amples renseignements, veuillez communiquer avec la :

Coordonnatrice des publications
Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire
Santé Canada
I.A. 6605C
2720, promenade Riverside
Ottawa (Ontario)
K1A 0K9

Internet : **pmra_publications@hc-sc.gc.ca**
www.hc-sc.gc.ca/pmra-arla/
Service de renseignements :
1-800-267-6315 ou (613) 736-3799
Télécopieur : (613) 736-3798





ISBN: 0-662-87214-2
Numéro de catalogue: H113-7/2002-1F-IN

Avant-propos

L’Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire (ARLA) de Santé Canada a accordé des homologations temporaires pour le biopesticide *Trichoderma harzianum* Rifai souche KRL-AG2 contenu dans le fongicide biologique RootShield Technical et ses préparations commerciales, le fongicide biologique en poudre mouillable RootShield Drench et le fongicide biologique RootShield Granules, mis au point par BioWorks Inc. pour la suppression des pathogènes des racines des tomates, des concombres et des plantes ornementales en serre.

Les fongicides biologiques RootShield Drench (poudre mouillable) et RootShield Granules sont des produits microbiens contenant 1,15 % de la souche KRL-AG2 de *Trichoderma harzianum* Rifai, une souche modifiée d’un champignon que l’on retrouve habituellement dans le sol. Les préparations commerciales de RootShield visent la suppression des pathogènes des racines des cultures en serre. RootShield sera surtout pratique pour les cultures de tomates et concombres en serre pour lesquelles, d’une part, il existe très peu de produits pour lutter contre les maladies; d’autre part, l’on privilégie les options de lutte non chimique.

L’ARLA a examiné les demandes d’homologation en vertu du Programme d’homologation des usages limités à la demande des utilisateurs (PHULDU). Conformément à ce programme, les demandes contenaient les examens faits par l’Environmental Protection Agency (EPA). Le comité des usages mineurs du Réseau national de légumes de serre a donné, entres autres, son appui à la demande.

À titre de condition à cette homologation temporaire, BioWorks Inc. devra soumettre des données de confirmation. Après l’examen de ces nouvelles données, l’ARLA publiera un projet de décision d’homologation et sollicitera les commentaires des parties intéressées avant de rendre une décision d’homologation finale.

Table des matières

1.0 Le micro-organisme actif, ses propriétés et ses usages

1.1 Description du micro-organisme actif et de la préparation qui le contient

Tableau 1.1 Détermination de la MAQT

Micro-organisme actif	*Trichoderma harzianum* souche KRL-AG2
Utilité	fongicide biologique
Nom scientifique Rang taxonomique Règne Phylum Ordre Genre Espèce Souche	*Trichoderma harzianum* Rifai souche KRL-AG2 Fungi Deuteromycotina Hyphomycètes (syn. Moniliales) *Trichoderma* *harzianum* KRL-AG2
Brevet canadien	Aucun
Pureté nominale de la matière active	La préparation « technique » est composée à 100 % de la matière active, ce qui correspond à un minimum de $5,0 \times 10^8$ cellules souches unipotentes (CFU)/g de matière sèche de souche KRL-AG2 de *T. harzianum*. 1,15 % p/p (équivalant à un minimum de 10^7 CFU/g) dans les préparations commerciales RootShield.
Nature des impuretés d'importance toxicologique, environnementale ou autre	La préparation technique ne contient aucune impureté ou microcontaminant reconnue comme substance toxique à la voie 1 de la Politique de gestion des substances toxiques (PGST). Une charge bactérienne supérieure à 10^7 CFU par gramme ou la présence d'un agent pathogène connu chez les humains produira le rejet de la culture de démarrage, l'interruption du processus de production ou l'élimination de la préparation finale. Les cultures souches sont rejetées si l'on détecte toute contamination fongique ou bactérienne. La souche KRL-AG2 ne produit aucune toxine réputée active contre les mammifères, mais des données de confirmation sont requises pour autoriser une homologation complète.

1.2 Propriétés physiques et chimiques des préparations techniques et commerciales

Tableau 1.2 Préparation technique : Le fongicide biologique RootShield Technical

Ne s'applique pas. Les préparations commerciales de fongicide biologique RootShield Drench (poudre mouillable) et RootShield Granules sont élaborées selon un procédé de fabrication continu qui n'inclut pas de préparation intermédiaire indépendante du produit technique.

Tableau 1.3 Préparations commerciales : Les fongicides biologiques RootShield Granules et RootShield Drench (poudre mouillable)

Propriété	Fongicide biologique RootShield Granules	Fongicide biologique en poudre mouillable RootShield Drench
État physique à 25 °C	Poudre granuleuse grossière	Poudre granuleuse fine
Couleur	Gris ou vert Indice Munsell 7.5Y 5/1.4	Gris ou vert Indice Munsell 2.5Y 8.3/2
Odeur	Inodore à terreuse	Inodore à terreuse
pH dans l'eau distillée	7.05	7.92
Densité	Masse volumétrique apparente : 0,61 g/cm^3 Densité après tassement : 0,68 g/cm^3	Masse volumétrique apparente : 0,29 g/cm^3 Densité après tassement : 0,63 g/cm^3
Viscosité	Sans objet	Sans objet
Corrosion	Pas d'évaluation de faite	Pas d'évaluation de faite
Suspension / teneur en eau	Pas d'évaluation de faite	Pas d'évaluation de faite
Humidité	Pas d'évaluation de faite	Pas d'évaluation de faite

1.3 Détails relatifs aux utilisations

RootShield Drench et RootShield Granules sont tous deux proposés pour combattre les maladies des racines causées par *Pythium*, *Rhizoctonia* et *Fusarium* dans les cultures alimentaires et non-alimentaires produites en serre (Catégories d'utilisation n° 5 et n° 6, respectivement). Pour les tomates, concombres et plantes ornementales, on applique le produit au terreau; pour les bulbes ornementaux, on l'applique directement au bulbe. On applique la poudre mouillable sous forme de mouillage, en la combinant avec assez d'eau pour permettre une application et une pulvérisation (à faible pression) uniformes dans le

mélange de culture. Le taux d'application est de 115 à 220 g de préparation par m^3 de mélange de culture. On peut tremper les bulbes ornementaux dans une suspension de 120 g/L avant la mise en terre. La préparation granulaire est ajoutée au mélange terreux à raison de 600 g/m^3 par ratissage ou par labourage des plates-bandes ou par incorporation dans le mélange au moment de sa préparation.

Trichoderma appartient au genre des deuteromycetes filamenteux qui sont répandus partout dans l'environnement. On les trouve dans la plupart des sols, autant les humus forestiers que les terres agricoles et les vergers. Les espèces de *Trichoderma* sont rarement signalées sur les plantes vivantes et n'ont pas été observées comme endophytes de plantes vivantes. *T. harzianum* est un antagoniste des pathogènes fongiques du sol. Son mode d'action est complexe, faisant intervenir la chimiotaxie, l'antibiose et le parasitisme. L'interaction initiale entre le parasite et son hôte semble être la croissance chimiotactique. L'hyphe du mycoparasite se développe directement vers son hôte en réaction à la sécrétion des lectines. Il semble que les lectines produites par l'hôte se lient aux résidus de galactose sur la paroi cellulaire du *T. harzianum*, lui pemettant de localiser sa proie. Le processus antagoniste débute avant le contact physique. *Trichoderma harzianum* sécrète plusieurs enzymes et antibiotiques qui dégradent la membrane cellulaire. Ces enzymes incluent les chitinases, protéinases et glucanases β-1,3. On a signalé aussi la production de différents antibiotiques volatiles et non volatiles comme les diterpènes, peptaibols, butenolides, furanones, pyrones et pyridones. On croit que ces enzymes et antibiotiques ont un effet synergique sur l'hôte. Il semble que l'affaiblissement de la membrane cellulaire augmente le rythme de diffusion des antibiotiques à travers la paroi. Au moment du contact physique, les hyphes de *T. harzianum* s'enroulent autour de l'hôte, pour entamer une croissance invasive. Peu après les hyphes de l'hôte s'effondrent à cause d'une insuffisance de la pression hydrostatique intracellulaire.

La souche KRL-AG2 de *Trichoderma harzianum* a été dérivée de la fusion de deux souches auxotrophes de *T. harzianum* : les souches T12m-2 his^- et T95-1 lys^-. La souche T12m-2 his^- est un auxotrophe histidino-déficient dérivé de la souche T12m par mutation causée par les rayons UV. La souche T12m est un dérivé spontané de la souche T12 (un isolat naturel du sol de Geneva, New York) obtenu par sélection sans traitement mutagène pour conserver la résistance au cycloheximide comme marqueur. La souche T95-1 lys^- est un auxotrophe lysino-déficient dérivé de la souche T95 par mutation aux rayons UV et par sélection, un mutant résistant au bénomyl dérivé d'une souche naturelle isolée en Colombie, en Amérique du Sud

Les souches T12 et T95 ont été sélectionnées pour la fusion de protoplastes à cause de leur capacité à contrôler plusieurs pathogènes végétaux. La souche T95 est aussi capable de coloniser les racines de plantes issues de semences inoculées. La souche KRL-AG2 est dérivée surtout de la souche T12. Les marqueurs moléculaires, quatre loci d'isoenzymes dont les souches parentales expriment des allèles différents, sont du phénotype T12. La souche KRL-AG2 est aussi sensible au bénomyl, comme la T12, mais pas la T95. Même

si les dérivés de la T12 et de la T95 utilisés pour la fusion protoplasmique sont auxotrophes, la KRL-AG2 est complètement prototrophe.

2.0 Méthodes d'analyse

2.1 Méthodes d'analyse du microorganisme tel qu'obtenu

2.1.1 Méthodes d'identification du micro-organisme

Les méthodes pertinentes de détection, d'isolation et d'énumération de la matière active, la souche KRL-AG2, ont été décrites en détail par le demandeur. On a eu recours à deux techniques différentes pour identifier l'agent microbien de lutte antiparasitaire (AMLA) : l'analyse isoenzymatique pour évaluer les cultures de démarrage avant la mise en production et la mise en culture sélective sur milieu de croissance pour distinguer la souche KRL-AG2 d'autres souches de *Trichoderma* en fonction des caractéristiques morphologiques de la colonie. La croissance végétative prend la forme d'hyphes qui se multiplient par reproduction asexuelle en produisant des conidiospores et des chlamydospores. La sporulation est influencée par des facteurs comme la nutrition, le pH et la lumière.

L'identification de *T. harzianum* au niveau de l'espèce est effectuée au moyen de techniques mycologiques normalisées pour ce genre. Les tests supplémentaires utilisés pour distinguer la souche KRL-AG2 des autres espèces de *Trichoderma* et des autres souches de *T. harzianum* incluent l'électrophorèse d'isoenzymes et la morphologie des colonies sur différents milieux de croissance conçus pour la reconnaissance des souches. On a confirmé la position taxonomique de la souche KRL-AG2 par examen au microscope des structures de reproduction asexuée (conidiospores et phialides) selon la description de l'espèce par Rifai.

Par électrophorèse sur gelée d'amidon, on peut différencier la souche KRL-AG2 de la plupart des autres souches de *Trichoderma* en comparant 17 schémas d'isoenzymes à des profils alléliques connus. Les exception connues sont la souche T12 de *T. harzianum* (et ses dérivés) et la souche 1892, qui présentent le même schéma allélique que la souche KRL-AG2 au loci de l'isoenzyme testé. Un mutant auxotrophe de la souche T12 a été utilisé dans la production de la souche KRL-AG2 par des techniques de fusion protoplastique.

On distingue aussi la souche de *Trichoderma harzianum* KRL-AG2 des autres souches, y compris la souche T12, par examen de la morphologie des colonies quand on les propage sur un milieu de différentiation (le CCNS). Le CCNS se compose de gélose dextrosée à la pomme de terre (PDA), amendée avec du cycloheximide, de la chlortétracycline, de la nystatine, du sulfate de streptomycine et de l'Igepal. Les cultures sur CCNS sont mises en incubation pendant 7 jours à 25 °C avec des photopériodes de 12 heures. Les colonies de KRL-AG2 sont d'abord de couleur blanchâtre et ne diffusent pratiquement pas de pigment dans la gélose environnante. Après plusieurs jours d'incubation, les colonies de

KRL-AG2 produisent des masses de spores vertes dans les zones diurnes de forte sporulation, alors que les autres souches produisent des masses de spores plus pâles avec peu de variation diurne dans la densité des masses de spores.

La morphologie des colonies de la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* est influencée par des facteurs comme le milieu de croissance et la lumière. Dans la gélose dextrosée à la pomme de terre, le périmètre des colonies est de couleur blanche à cotonneuse, les spores vertes donnant une couleur vert pâle à vert sombre au centre de la colonie. Dans des conditions de densité supérieure, les hyphes aériens blancs sont moins longs, ce qui augmente la densité de la masse de spores.

Les préparations commerciales de fongicide biologique RootShield Drench (poudre mouillable) et RootShield Granules ne contiennent aucun métabolite toxique ou substance dangereuse connue. Cependant, *T. harzianum* est un producteur prolifique de métabolites secondaires, dont de nombreux types d'alkyl-pyrones, d'isonitriles, de polykétides, de composés oxygénés hétérocycliques, de dikétopiperazines et de terpénoïdes (sesquiterpènes, diterpènes) qui agissent soit comme agents antifongiques et antibactériens soit comme régulateurs de la croissance des plantes. Des nombreux métabolites antibactériens et antifongiques produits par le *T. harzianum*, quelques-uns seulement constituent un danger potentiel pour les applicateurs et pour les consommateurs des plantes traitées. Il y a notamment une classe de polypeptides linéaires hydrophobes appelés peptaibols qui sont produits par la majorité des espèces et souches de *Trichoderma*, y compris *T. harzianum*. Les peptaibols ont des propriétés antibiotiques et contiennent une forte proportion d'acide α,α-diméthyl-isobutyrique. Beaucoup de peptaibols comme les trichorzianines, les trichokindines, les trichorzines, trichorozines et harzianines manifestent un large éventail d'activités biologiques reliées à la perturbation des membranes cellulaires. Ces activités incluent des effets *in vitro* comme l'hémolyse, le découplage de la phosphorylation oxydative dans les mitochondries hépatiques du rat, l'inhibition de la multiplication de différents types de cellules, le rôle de canal agoniste dans les myocytes cardiaques du ouaouaron, et la stimulation de la sécrétion de catécholamine dans les cellules chromaffines des glandes surrénales.

Il n'existe pas de mycotoxines connues produites par *T. harzianum,* quoiqu'un document publié attribue la production de certaines mycotoxines trichotécènes (c.-à-d. la trichodermine et le trichodermol) à un champignon identifié comme étant *T. harzianum*, mais que l'on a cru plus tard être un isolat mal identifié de *T. atroviride*. *Trichoderma atroviride* n'est pas lié de près à *T. harzianum*, mais ressemble plutôt à *T. viride* qui est un producteur connu de ces mycotoxines.

Il n'y a jamais eu d'analyse de la souche KRL-AG2 pour déterminer si cet isolat produit des peptaibols, ou tout autre métabolite secondaire associé à *T. harzianum*. Le demandeur prétend qu'on n'a signalé aucun effet toxique de la souche KRL-AG2 sur les plantes ou les animaux depuis son homologation aux États-Unis et dans d'autres pays et au cours des 18 années d'études faites à Cornell University, là où on a élaboré le produit pour son usage commercial. Cependant, l'absence d'effet nocif dans des études de toxicité aiguë

chez des animaux donne à penser que le procédé de fabrication ne favorise pas la production de ces métabolites secondaires potentiellement toxiques ou encore que les niveaux produits sont trop bas pour causer un effet chez les animaux auxquels on a administré une dose élevée de ce champignon. Dans l'absence de données spécifiques à la souche, on suppose que la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* a la capacité de produire tous les métabolites secondaires signalés chez d'autres souches de ce champignon.

2.1.2 Méthodes pour déterminer la pureté de la souche de collection

La culture mère et les cultures de démarrage de la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* sont entreposées sur des granules de gel de silice à −20 °C à Cornell University, à Ithaca dans l'État de New York. Avant de débuter la production, on évalue la stabilité génétique et la contamination possible des cultures de démarrage. On surveille les contaminants bactériens potentiels en mettant des échantillons dilués en culture sur une gélose trypsique-soja (TSA) tandis que les contaminants fongiques sont détectés sur de la gélose dextrosée à la pomme de terre (PDA).Toutes les colonies fongiques et bactériennes sont purifiées et identifiées à l'aide des méthodes traditionnelles de classification ainsi qu'avec une analyse de l' « empreinte génétique » moléculaire, s'il y a lieu. On détermine ensuite le rapport possible à des pathogènes bactériens connus. On rejette les cultures de démarrage ayant une charge bactérienne de plus de 10^7 cellules souches unipotentes (CFU) par gramme ou qui révèlent la présence d'un agent pathogène connu chez l'humain; le procédé de production est alors interrompu et on élimine le produit final. On rejette toute culture souche présentant une contamination fongique ou bactérienne.

2.1.3 Méthodes pour déterminer le contenu en microorganismes dans le produit de fabrication utilisé pour la production des préparations commerciales

Selon la formulation de la préparation commerciale, on prend de trois à cinq échantillons de chaque lot pendant la production et on les analyse (test de CFU) selon une méthode normalisée pour déterminer la viabilité de la matière active. Le test de CFU est fait pour estimer le nombre de propagules viables de la souche KRL-AG2 par unité de masse d'échantillon (CFU/g poids sec). La garantie du produit, exprimée en CFU/g de poids sec de produit, est déterminée après le processus de hachage, désagglomération et mélange. On ne fait pas d'essais pour déterminer la puissance du produit final contre les pathogènes ciblés des semences.

2.1.4 Méthodes pour déterminer les impuretés pertinentes dans les produits de fabrication

Le demandeur a fourni une courte explication relative à la formation de substances étrangères pendant le procédé de fabrication. Outre les produits métaboliques normaux (c.-à-d. le dioxyde de carbone, l'eau et les protéines excrétées) la souche KRL-AG2 ne produit pas de substance toxique connue ou présumée toxique pendant le processus de fermentation. Cependant, comme les préparations commerciales sont produites en faisant pousser des champignons sur une matrice (poudre ou granule) dans des conditions non

stériles et que les procédés de hachage et de mélange ne sont pas non plus tenus sous conditions stériles, on s’attend à ce qu’il y ait de la contamination. Les procédures de contrôle de la qualité lors de la fabrication sont conçues pour d’une part minimiser la formation d’ingrédients involontaires et d’autre part, pour surveiller le niveau de ces ingrédients involontaires dans le produit fini. Ces procédures débutent avec la sous-culture des cultures de démarrage et se poursuivent jusqu’à l’étape du mélange des préparations commerciales.

Selon le demandeur, les seuls ingrédients involontaires dans ces produits sont d’autres micro-organismes du sol, notamment d’autres champignons (*Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, levures) et bactéries (streptomycètes), qui sont associés à un ingrédient dans la matrice de culture. On a tout de même établi des normes relatives à la contamination pour éviter que les préparations commerciales contiennent des niveaux de contaminants microbiens pouvant affecter l’efficacité des produits ou leur stabilité d’entreposage. Un procédé de détection des pathogènes connus chez l’humain est aussi en place. Les préparations commerciales ne contiennent ou ne produisent aucun pathogène connu chez l’humain ou chez les animaux.

Des procédures sont également en place pour contrôler la présence de contaminants microbiens dans les préparations commerciales. On a examiné les données d’analyse de cinq lots du fongicide RootShield Granules et du fongicide RootShield Drench (poudre mouillable) pour évaluer la présence et le niveau de contamination par les bactéries et les champignons. Le dénombrement total de bactéries pour le fongicide RootShield Granules variait de $1,0 \times 10^5$ à $1,1 \times 10^6$ CFU/g et celui pour le fongicide en poudre mouillable RootShield Drench était d’un ordre de grandeur de plus, variant de $3,5 \times 10^6$ à $1,5 \times 10^7$ CFU/g. La contamination fongique dans tous les lots s’est avérée plus faible que $1,0 \times 10^5$ CFU/g. Les niveaux de contamination plus faibles que ces concentrations n’ont pas été considérés importants et n’ont pas été enregistrés. On n’a pas fait l’identification taxonomique des colonies isolées de bactéries et de champignons.

Des analyses microbiennes supplémentaires de trois lots de production de T-22G Biological Plant Protectant Granules (une formulation granulaire semblable à RootShield Granules) et de T-22 Planter Box (une formulation de poudre mouillable semblable à RootShield Drench) ont révélé la présence de contaminants bactériens et fongiques. Dans les deux formulations, les moyennes totales de populations de bactéries et de champignons étaient du même ordre de grandeur, de 3,1 à 5.0×10^7 CFU/g. Ces niveaux de contamination sont équivalents aux niveaux microbiens trouvés dans les substances analysées. Pour plus de précaution, on a envoyé les cultures microbiennes à l’université de Cornell pour identification et elles ont toutes été identifiées comme des espèces communes dans le sol, notamment *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus*, des levures et *Streptomyces*. On y a aussi détecté le champignon *Rhizopus*, communément retrouvé en suspension dans l’air. Lors d’études antérieures, le Rochester General Hospital (Rochester, New York) avait analysé des échantillons de production et n’y avait pas trouvé d’agent pathogène connu chez l’humain ou les animaux, dont *Escherichia coli*, *Staphylococcus*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Yersinia* sp.,

Salmonella, *Shigella*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus* et *Campylobacter*. Aucun pathogène n'a été détecté dans les cinqs lots de production consécutifs analysés.

2.1.5 Méthodes pour démontrer l'absence de pathogènes connus chez les humains ou et les mammifères.

Tel que mentionné ci-dessus, le programme d'assurance de la qualité mis en place par le demandeur pour la production des deux préparations commerciales de RootShield requiert la destruction du lot dans le cas de détection de tout pathogène connu chez l'humain ou les animaux pendant le processus de fabrication.

2.1.6 Méthodes pour démontrer la stabilité d'entreposage et la durée de conservation du micro-organisme

On a effectué des tests de stabilité d'entreposage sur des lots représentatifs des formulations RootShield Granules et RootShield Drench (poudre mouillable) : on a entreposé des échantillons de produit fini à la noirceur, à des températures de 0 à 6 °C, sauf pour de brèves périodes lors du placement des échantillons en entreposage ou de leur retrait pour fin d'analyse. Aucun autre facteur environnemental n'a été contrôlé ou surveillé. On a procédé au dénombrement des colonies fongiques viables sur gélose (CFU) à tous les trois mois mais seuls les résultats des derniers tests pour chacun des échantillons sont présentés. La majorité des 14-19 lots testés ont maintenu les spécifications minimales de dénombrement des CFU pour une durée d'entreposage allant jusqu'à douze mois. Les directives actuelles pour l'emploi et l'entreposage recommandent d'entreposer le produit à des températures de moins de 5 °C et d'utiliser le produit dans un délai de douze mois. Ces recommandations sont conformes aux renseignements obtenus sur l'entreposage du produit.

2.2 Méthodes d'analyse et de quantification des résidus (viables ou non viables) du micro-organisme actif et de ses métabolites pertinents

Comme les études de toxicité et pathogénicité aiguës de premier palier n'ont pas révélé d'effets nocifs significatifs et qu'il n'existe pas de donnée suggérant que l'AMLA produit des métabolites secondaires pouvant représenter un risque pour la santé en quantités supérieures à ce que produisent les isolats naturels de *T. harzianum* dans l'environnement, il n'est pas nécessaire d'établir une limite maximale de résidus (LMR) pour la souche KRL-AG2 de *Trichoderma harzianum* Rifai. Par conséquent, il n'est pas nécessaire de déterminer des méthodes pour quantifier les résidus de la souche KRL-AG2 de *Trichoderma harzianum* Rifai dans les aliments destinés aux humains et aux animaux. Cependant, on demande des données d'analyse confirmatives pour certains antibiotiques peptaibols que pourrait produire la souche KRL-AG2. Ces essais sur les peptaibols doivent inclure les trichorzianines A et B, les trichokindines I-VII, les trichorzines HA et MA, les trichorozines I-IV et les harzianines HC. Le demandeur doit inoculer le champignon dans un milieu de croissance qui peut soutenir la production d'antibiotiques peptaibols; il doit utiliser les techniques analytiques appropriées pour l'extraction,

l’identification et la quantification des résidus de ces métabolites. Ces méthodes sont décrites dans les documents scientifiques publiés.

Il n’existe pas de niveau de tolérance internationale connu pour cet AMLA et ses métabolites; l’EPA a accordé l’exemption de l’exigence de production d’un niveau de tolérance de la souche KRL-AG2 dans toutes les denrées de consommation humaine et animale.

Les méthodes analytiques pour détecter les résidus viables de la souche KRL-AG2 dans les tissus humains et animaux font appel au mélange tissulaire et à la récupération sur un milieu de culture sélectif au trichoderma additionné d’antibiotique et de fongicide et spécialement conçu pour soutenir uniquement la croissance de colonies de la souche KRL-AG2.

3.0 Effets sur la santé humaine et animale

Consulter le tableau sommaire à l’Annexe I.

3.1 Sommaire intégré de la toxicité et de l’infectiosité

La documentation soumise par la société BioWorks, Inc. en vue de l’homologation des produits RootShield Technical, RootShield Drench (poudre mouillable) et RootShield Granules, dont la matière active est la souche KRL-AG2 du champignon *Trichoderma harzianum*, a fait l’objet d’un examen par rapport à la santé humaine et animale. On a jugé cette documentation suffisamment complète pour permettre une décision relative à l’homologation. Les données fournies pour décrire la matière active ainsi que les procédés de fabrication et le contrôle de la qualité ont brossé un tableau précis des risque éventuels pour la santé et la sécurité humaines qui sont reliés à la souche KRL-AG2 du *T. harzianum* et aux contaminants bactériens et fongiques introduits lors de la production. Cependant, d’autres données (voir la section 2.2) sont nécessaires pour déterminer si l’AMLA actif est capable de produire certains métabolites secondaires, des polypeptides dits antibiotiques peptaibols, à des concentrations qui pourraient présenter des risques dans le contexte de traitements commerciaux.

La souche KRL-AG2 du *Trichoderma harzianum* n’a révélé aucun indice de toxicité ni de pathogénicité lors de son administration à des rats par voie orale ou intraveineuse. On a constaté chez les animaux traités une certaine hypertrophie de la rate à la suite d’une injection intraveineuse mais cela semblait être une réaction normale à la dose élevée d’un agent étranger. L’instillation de l’organisme d’essai dans la trachée n’a entraîné aucun indice évident de pathogénicité reliée au traitement. On a observé des lésions dans le système respiratoire des animaux mâles et femelles, sous forme de poumons tachetés ou poumons élargis et enflés. Bien que l’on ait parfois constaté des lésions lors de l’instillation directe dans les poumons d’un grand nombre de microorganismes, y compris les champignons, les lésions grossières constatées dans le cadre de cette étude semblaient être typiques d’une réponse immunitaire normale chez des animaux bien portants.

L'ARLA a accepté la demande d'exemption aux exigences en matière d'études de toxicité cutanée aiguë et d'irritation principale cutanée pour les préparations commerciales RootShield Drench (poudre mouillable) et RootShield Granules pour diverses raisons : la constatation de l'absence d'effets nocifs chez des travailleurs participant à la fabrication de ces produits; la non-toxicité et l'usage commercial généralisé des ingrédients inertes de formulation (produits de formulation); le classement du microorganisme actif comme ayant une faible toxicité et ne présentant aucune pathogénicité lors des épreuves de toxicité aiguë par voie orale, pulmonaire et intraveineuse. On a relevé une légère irritation des yeux chez les lapins traités avec une préparation purifiée de l'organisme d'essai; toutefois, les préparations commerciales de RootShield contiennent des produits de formulation connus comme étant légèrement irritants pour les yeux.

Vu l'absence d'effets nocifs importants dans les études de risque maximal de premier palier, on n'exige, dans le cas de la souche KRL-AG2 de *T. harzianum*, aucune étude de palier supérieur de la toxicité et de la pathogénicité comportant des essais chroniques et subchroniques ou des épreuves d'oncogénicité, de mutagénicité ou de tératogénicité. Par ailleurs, on n'a constaté aucun problème toxicologique relié à aucun des produits de formulation utilisés dans les préparations RootShield Drench (poudre mouillable) et RootShield Granules.

La matière active microbienne, soit la souche KRL-AG2 du *T. harzianum*, n'est pas connue comme pathogène humain ni comme perturbateur endocrinien. Les études de toxicité et de pathogénicité chez les rongeurs soumises par le demandeur indiquent qu'après l'utilisation de plusieurs voies d'exposition, le système immunitaire est toujours indemne et capable de traiter et éliminer la matière active. Par conséquent, aucun effet nocif n'est connu ni prévu pour les systèmes immunitaire et endocrinien.

3.2 Incidents d'hypersensibilité

On n'a soumis aucune étude de sensibilisation cutanée pour la matière active microbienne, à savoir la souche KRL-AG2 du *Trichoderma harzianum*, car l'ARLA n'exige aucune étude d'hypersensibilité pour appuyer la demande d'homologation des agents microbiens de lutte antiparasitaire. Les études de sensibilisation cutanée ne sauraient remplacer les rapports d'incidents d'hypersensibilité soumis en temps opportun après l'approbation de l'homologation.

Au cours des activités de recherche et de développement des produits, et aussi lors des applications opérationnelles aux États-Unis où la matière active est homologuée depuis 1990, des gens ont sans doute été exposés au mycélium et aux spores de l'AMLA. En outre, il est fort probable qu'ils aient été exposés par voie cutanée et par inhalation. Or jusqu'à présent, aucun rapport ni autre indice n'a signalé d'hypersensibilité à ce champignon. Toutefois, vu que la plupart des microorganismes contiennent des substances qui provoquent des réactions d'hypersensibilité chez les êtres humains, la souche KRL-AG2 du *T. harzianum* est considérée comme un agent de sensibilisation

éventuel. Par conséquent, l'inscription de mise en garde « AGENT SENSIBILISANT POSSIBLE » doit figurer dans les aires d'affichage principales des étiquettes du produit RootShield Technical et de ses préparations commerciales. Par ailleurs, pour atténuer la sensibilisation cutanée éventuelle des travailleurs et manipulateurs exposés au produit dans le cadre de leur emploi, on demandera également le port de l'équipement de protection individuelle. Comme condition d'homologation, on s'attend à ce que le demandeur signale à l'ARLA toute constatation ultérieure d'hypersensibilité et tout incident d'effet nocif pour la santé chez les travailleurs, les préposés à l'application et les autres personnes touchées par un exposition même occasionnelle. Les rapports d'incidents doivent être détaillés, décrivant l'AMLA et sa formulation, la fréquence, la durée et les voies d'exposition à la matière, les observations cliniques et tout autre élément pertinent.

3.3 Effets sur la santé humaine et animale découlant de l'exposition à la matière active ou à ses impuretés

3.3.1 Évaluation de l'exposition professionnelle et de l'exposition occasionnelle

L'ARLA ne s'attend pas à ce que l'exposition professionnelle crée un risque indu pour la santé puisque le profil de toxicité et pathogénicité de la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* est faible et que l'on suppose que l'utilisateur suivra les mesures de précautions inscrites sur l'étiquette du fongicide en poudre mouillable RootShield Drench et du fongicide RootShield Granules.

Il existe un potentiel d'exposition par la peau, les yeux ou par inhalation des manipulateurs de pesticide, la plus importante source d'exposition des travailleurs demeurant le contact dermal. Comme la peau saine agit comme barrière naturelle aux invasions microbiennes dans le corps humain, l'absorption dermale peut avoir lieu seulement si la peau est coupée, si le microbe est un pathogène muni de mécanismes d'entrée à travers la peau ou par une infection de la peau, ou si des métabolites produits peuvent être absorbés par la peau. La souche KRL-AG2 n'est pas un pathogène connu chez l'humain et elle n'est pas connue pour produire des métabolites qui sont absorbés par la peau. Vu l'absence démontrée d'effets nocifs dans l'étude par voie intraveineuse, l'ARLA estime que même si la peau est coupée, cela ne présente pas de risque à la santé comme voie d'entrée et d'absorption de la souche KRL-AG2 de *Trichoderma harzianum* dans le corps. En outre, le pesticide n'a pas causé d'incidents de nature dermale (y compris de l'hypersensibilité) chez les travailleurs qui ont eu un contact dermal fréquent avec la souche KRL-AG2. Toutefois, comme les études d'exposition dermale menées sur une autre souche de *T. harzianum* Rifai homologuée par l'EPA (la souche T-39) indiquent un potentiel d'irritation cutanée et une hypersensibilité retardée au contact du produit, l'ARLA impose des restrictions sur l'étiquette et des mesures d'atténuation du risque pour protéger les populations susceptibles d'être les plus exposées à la souche KRL-AG2, par suite des applications en serre des fongicides RootShield Drench (poudre mouillable) et RootShield Granules. Les manipulateurs de pesticide peuvent minimiser

cette exposition au pesticide en portant des chemises à manches longues, des pantalons longs, des gants imperméables, des bas et des souliers.

On a constaté une légère irritation aux yeux chez le lapin exposé à une préparation de poudre pure de la souche KRL-AG2. Cependant, comme les préparations commerciales du fongicide RootShield contiennent toutes deux des ingrédients (produits de formulation) qui sont des irritants pour les yeux, il est possible de résoudre adéquatement ce problème si les travailleurs portent des lunettes protectrices.

Bien que les études soumises sur la souche KRL-AG2 indiquent un léger potentiel de risque pour les poumons, l'exposition par inhalation ne constitue pas un problème si les applicateurs et les travailleurs présents sur les lieux peu après l'application portent un masque anti-poussières ou muni de filtres. Conséquemment, les manipulateurs de pesticide doivent porter un masque contre la poussière et le brouillard de pulvérisation de type NIOSH N-95, P-95 ou R-95 pour réduire l'exposition. Les étiquettes des préparations commerciales devront aussi indiquer un délai de sécurité restreint de quatre heures avant l'entrée des travailleurs et autres personnes dans la serre traitée.

L'étiquette ne permet pas les applications sur le gazon ni dans les aires résidentielles ou récréatives. Comme les sites d'utilisation sont agricoles (serres), l'exposition des nourrissons et des enfants à l'école, à la maison et dans les garderies est probablement minime à inexistante. Conséquemment, on prévoit un risque négligeable ou inexistant pour la santé des nourrissons et des enfants.

4.0 Résidus

4.1 Sommaire des résidus

Même si *T. harzianum* est un organisme très répandu dans la plupart des environnements terrestres, les espèces de *Trichoderma* sont rarement signalées sur les plantes vivantes. Il est donc probable que le mode d'emploi proposé sur les denrées ne donne lieu qu'à de faibles niveaux d'exposition par l'alimentation ou à de faibles niveaux de résidus sur les denrées traitées, au moment de la récolte. De plus, il est probable que tout résidu de micro-organisme actif soit éliminé des denrées traitées par le lavage, le pelage, la cuisson et la transformation de ces aliments. Même si ces résidus ne sont pas enlevés l'exposition à cet agent microbien par voie alimentaire est peu probable de causer des risques indus aux consommateurs car aucun effet nocif n'a été constaté à des doses maximales au premier palier de l'étude de toxicité aiguë.

L'ARLA n'a pas exigé les essais chroniques et subchroniques puisque le palier I de l'étude de toxicité aiguë par voie orale a démontré une faible toxicité et aucun potentiel pathogène pour le micro-organisme actif. Vu le profil de faible toxicité et le faible potentiel d'exposition de l'AMLA, il n'y a pas de danger de risques chroniques causés par l'exposition par voie alimentaire des sous-populations sensibles, comme les nourrissons et les enfants.

L'exposition par voie alimentaire aux métabolites secondaires produits par la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* est possible, même si aucune partie aérienne des tomates et des concombres ne sera traitée de façon directe avec l'AMLA. Le champignon qui se développe activement dans le milieu de culture en serre produits des métabolites qui peuvent être assimilés par les racines des plantes et se retrouver dans les concombres et tomates (fruits); cependant aucune donnée de résidus de culture n'a été soumise pour les métabolite secondaires qui peuvent présenter une préoccupation pour la santé humaine, plus particulièrement les antibiotiques peptaibols. Toutefois, compte tenu du passé d'utilisation sécuritaire des produits contenant cette matière active aux États-Unis, comme l'indiquent les rapports d'absence d'effets nocifs, les niveaux de résidus de ces métabolites sont probablement assez faibles dans la culture au moment de la récolte pour ne pas causer de préoccupation en ce qui touche l'exposition par voie alimentaire. L'ARLA requiert des données analytiques comparant les niveaux de peptaibols produits par la souche KRL-AG2 à ceux produits par au moins une des souches de *T. harzianum* présentes dans la nature, afin de confirmer que les concentrations de peptaibols produites par l'AMLA ont peu de chance d'excéder celles produites par les isolats naturels dans l'environnement. Les souches d'essai doivent être mises en croissance sur un milieu de culture qui soutient la production de métabolites de peptaibols, tel que mentionné dans la documentation publiée.

Trichoderma harzianum n'est généralement pas reconnu comme étant un micro-organisme aquatique. On ne s'attend donc pas à ce qu'il prolifère dans des habitats aquatiques après un incident d'exposition directe ou indirecte (p. ex., l'eau de ruissellement provenant d'une serre traitée). En outre, on ne considère pas que *T. harzianum* constitue un risque dans l'eau potable. D'ailleurs, *T. harzanium* n'est pas un des éléments recherchés lors de l'examen de l'eau potable en tant qu'indicateur potentiel de contamination microbienne ou comme contaminant pathogénique direct. La percolation dans le sol et le traitement de l'eau potable par les municipalités réduiraient la possibilité de transfert significatif de résidus à l'eau potable. Par conséquent, le potentiel d'exposition et le risque par le biais de l'eau potable sont probablement minimes, voire inexistants, pour cet AMLA.

4.2 Limite maximale de résidus

Les études de toxicité et pathogénicité aiguës de premier palier n'ont pas révélé d'effets nocifs significatifs et il n'existe pas de donnée suggérant que l'AMLA produit des métabolites secondaires pouvant représenter un risque pour la santé en quantités supérieures à ce que produisent les isolats naturels de *T. harzianum* dans l'environnement. Par conséquent, il n'est pas nécessaire d'établir une limite maximale de résidus (LMR) pour la souche KRL-AG2 de *Trichoderma harzianum* Rifai en vertu de l'article 4(d) de la *Loi sur les aliments et drogues* (adultération des aliments) et tel que définit à l'alinéa B.15.002 de la division 15, du *Règlement sur les aliments et drogues.*

Le demandeur devra toutefois soumettre des données de confirmation à l'ARLA concernant l'identification et la quantification des antibiotiques peptaibols produits par la souche KRL-AG2. Ces essais sur les peptaibols doivent inclure les trichorzianines A et B, les trichokindines I-VII, les trichorzines HA et MA, les trichorozines I-IV et les harzianines HC. Le demandeur doit inoculer le champignon dans un milieu de croissance qui peut soutenir la production de ces métabolites; il doit utiliser les techniques analytiques appropriées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces résidus. Si l'on détecte des résidus de ces peptaibols dans le milieu de croissance pur et que leur niveau est supérieur à ce que produisent d'autres souches naturelles de *T. harzianum*, on pourra exiger des données additionnelles de leur occurrence dans un milieu inoculé en serre et dans les parties des plants traités destinées à l'alimentation humaine ou animale. Selon les résultats de telles analyses, il sera peut-être nécessaire d'établir une LMR pour ces résidus de métabolites particuliers.

L'EPA a accordé l'exemption de tolérance pour la souche KRL-AG2 et une autre souche pour le contrôle biologique, la souche T-30 de *T. harzianum* Rifai. En outre, il n'existe pas de LMR au Codex pour aucune souche de *T. harzianum*.

5.0 Comportement et devenir dans l'environnement

5.1 Sommaire sur le devenir et le comportement dans l'environnement terrestres

5.1.1 Études sur le terrain

On a présenté l'étude suivante : des semences de maïs et de soja traitées avec des conidies de la souche KRL-AG2 de *Trichoderma harzianum* ont été semées en champ, avec des semences non traitées. On a procédé à la culture selon les pratiques agronomiques normales, mais sans traitement fongicide. À l'automne, on a placé dans des parcelles, à même le champ, des débris de racines et de sol recueillis à proximité des zones racinaires des plants traités et non traités. Ces parcelles sont demeurées en place pendant tout l'hiver 1988-1989. Au printemps 1989, on a recueilli des échantillons de sol de ces parcelles et on les a analysés pour évaluer la présence de populations de la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* et d'autres espèces de *Trichoderma*. Après ces essais, on a semé dans ces parcelles des semences non traitées de maïs et de soja. On a récolté les plans à maturité et on a analysé la colonisation racinaire par la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* KRL-AG2 et d'autres espèces de *Trichoderma*.

On a détecté la souche KRL-AG2 de *Trichoderma harzianum* dans le sol recueilli dans les parcelles au printemps 1989. La souche a donc survécu à l'hiver. Son isolation des échantillons de sol collectés des cultures non traitées au printemps 1989 suggère une dissémination rapide de la matière active dans le sol; toutefois, aucune comparaison n'a pu être faite entre les groupes traités et non traités. On a démontré que les populations survivantes de la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* avaient colonisé les racines des cultures subséquentes jusqu'à un certain niveau, mais qu'elles n'avaient eu aucun effet nocif observé, bénéfique ou délétère, sur ces cultures.

5.1.2 Conclusions

Les espèces de *Trichoderma* sont très répandues dans le sol, que ce soit la terre, le bois pourri ou d'autres matières végétales, et pour ainsi dire dans tous les environnements terrestres. Ces champignons produisent d'abondantes conidies regroupées dans des masses de spores mucoïdes qui peuvent être disséminées par l'eau et par la faune terricole comme les insectes et les vers de terre. En ce qui touche son abondance relative par rapport aux autres espèces de *Trichoderma*, *T. harzianum* est décrite comme habitant davantage les climats tempérés; il est toutefois clair, de par les études faites sur le terrain et la documentation publiée, que des souches tolérantes au froid existent. Il semble aussi évident que la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* pourra se disséminer et persister dans l'environnement canadien après son introduction. On ne s'attend cependant pas à d'effets nocifs car, à part attaquer d'autres champignons, *T. harzianum* est un organisme saprophyte. De plus, la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* est utilisée aux États-Unis depuis plusieurs années sans que l'on ait signalé d'effets nocifs sur l'environnement.

6.0 Effets sur les organismes non visés

Consulter le tableau sommaire à l'Annexe I.

6.1 Sommaire intégré de la toxicologie environnementale

On a soumis des justifications acceptables pour l'exemption des exigences d'essais en matière de toxicologie environnementale relative aux oiseaux, mammifères sauvages, poissons d'eau douce, d'estuaire et de mer, arthropodes terrestres et aquatiques, micro-organismes, plantes aquatiques et plantes terrestres non visées. Ces justifications se fondaient sur l'exposition minimale liée aux usages proposés pour les produits, la nature répandue de *T. harzianum*, le manque d'effets nocifs signalés dans la documentation publiée et l'incapacité de *T. harzianum* de s'établir dans des environnements aquatiques non pollués. Même si des biotypes agressifs de *T. harzianum* ont déjà été identifiés comme agent responsable de la « maladie de la moisissure verte » dans les champignonnières commerciales, on considère que de tels risques sont faibles si l'on n'utilise pas ces produits dans les champignonnières et si la matière végétale traitée n'est pas utilisée comme substrat par les producteurs de champignons.

On a refusé l'épreuve de toxicité orale aiguë chez les oiseaux. Cependant, on ne considère pas ces données nécessaires pour évaluer les risques de la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* puisqu'on s'attend à ce que le potentiel d'exposition de ces organismes par voie orale soit minime puisque le produit est utilisé en serre.

L'ingrédient de formulation identifié dans le fongicide biologique en poudre mouillable RootShield Drench et le fongicide biologique RootShield Granules ne pose pas de risque environnemental si les produits sont utilisés aux concentrations et doses d'application proposés.

6.2 Évaluation environnementale

Les espèces du genre *Trichoderma* sont très répandues dans le sol, que ce soit la terre, le bois pourri ou autres matières végétales, et pour ainsi dire dans tous les environnements terrestres. L'étude sur le terrain soumise par le demandeur indique que la souche KRL-AG2 de *T. harzianum* s'est disséminée rapidement dans l'environnement et y est demeurée à la suite de l'application. Ces constats concordent avec la documentation publiée; par conséquent, la matière active, un produit né de la fusion de deux souches des espèces *Trichoderma* s'est comportée comme prévu. Du point de vue de la protection de l'environnement, certains des renseignements et des données publiés soulèvent certaines préoccupations. Son mode d'action présente des effets potentiels non ciblés contre des micro-organismes du sol, comme les mycorhizes. En outre, les métabolites régulateurs des plantes et les enzymes cellulolytiques produits par cette espèce pourrait affecter négativement d'autres plantes non visées. Un bon nombre de ces préoccupations environnementales ont toutefois été atténuées par les modes d'utilisations proposés, tant du fongicide biologique en poudre mouillable RootShield Drench que du fongicide biologique RootShield Granules, ainsi que par l'absence de documentation publiée quant aux effets secondaires. La souche KRL-AG2 de *Trichoderma harzianum* ne sera appliquée que sur les aliments de serriculture et sur les cultures non alimentaires, ce qui réduit considérablement le potentiel d'exposition. Il faut dire que l'on n'a fait état que d'un nombre relativement faible d'effets secondaires, lesquels traitaient surtout de l'identification de *T. harzianum* comme l'agent causant la « moisissure verte ». Même si l'on ne connaît pas le potentiel de la matière active à causer la moisissure verte, le fongicide biologique en poudre mouillable RootShield Drench et le fongicide biologique RootShield Granules ne seront pas utilisés dans des champignonnières. En outre, une déclaration de limitation empêchera les serriculteurs de distribuer les matières végétales traitées à titre de substrat aux producteurs de champignons. Les quelques autres références traitaient de la question des métabolites de régulation de la croissance végétale. On a bien fait rapport de la phytotoxicité; cependant, ces études portaient sur des concentrations beaucoup plus grandes que celles que l'on utiliserait normalement dans un milieu naturel. Les occurrences de phytotoxicité sont peu probables dans les plantes non ciblées, étant donné que le *T. harzianum* ne sera appliqué que dans des serres où l'exposition de plantes non visées devrait demeurer faible.

En se fondant en grande partie sur la documentation publiée, on a soumis des demandes d'exemption quant aux exigences de toxicologie environnementale. Les organismes non visés ne seront que minimalement sujets à un accroissement de l'exposition à *T. harzianum* par suite de l'utilisation du fongicide biologique en poudre mouillable RootShield Drench et du fongicide biologique RootShield Granules. Les produits de formulation dans les préparations commerciales ne présentent pas de risque environnemental s'ils sont utilisés aux concentrations et aux doses d'application proposés. Par conséquent, le fongicide biologique en poudre mouillable RootShield Drench et le fongicide biologique RootShield Granules ne devraient présenter que de faibles risques environnementaux s'ils sont utilisés conformément au mode d'emploi sur

l'étiquette. L'énoncé suivant devra cependant figurer au panneau secondaire de l'étiquette, sous la section PRÉCAUTIONS ENVIRONNEMENTALES :

« La matière végétale traitée ne doit pas servir de substrat aux exploitations champignonnières. »

7.0 Efficacité

7.1 Efficacité contre des maladies particulières

On propose les produits RootShield pour la suppression les maladies des racines causées par les champignons *Pythium*, *Rhizoctonia* et *Fusarium* dans les tomates, concombres et cultures ornementales en serre. RootShield peut être utilisé seul ou encore conjointement avec certains fongicides chimiques. On rapporte que RootShield fournit une protection prolongée au système racinaire, de l'établissement du peuplement jusqu'à la récolte.

Les étiquettes proposées indiquent que le fongicide biologique en poudre mouillable RootShield Drench doit être mis en suspension dans suffisamment d'eau pour permettre une application uniforme, à une dose de 115 à 220 grammes de produit par mètre cube non compacté de terreau de serriculture, de sol ou de plates-bandes. RootShield doit être appliqué en utilisant des buses d'irrigation à faible pression, comme des buses à jet plat, ou autres systèmes d'irrigation. Les boutures ou les transplantations à racines nues doivent être trempées dans la poudre sèche du RootShield Drench ou dans une suspension de 480 g par 20 L d'eau. Quant aux bulbes de plantes ornementales, on doit les saupoudrer - la dose relative est de 0,5 à 1,5 kg par 50 kg de bulbes. La recette d'utilisation des granules (RootShield Granules) consiste à les intégrer au terreau de serriculture ou au sol à la dose de 600 à 850 g de produit par m^3 de mélange non compacté.

L'examen à l'appui des produits RootShield a porté sur 26 essais d'efficacité sur des cultures serricoles (plantes ornementales, tomates, oignons, aubergines et poivrons). Dans la plupart des cas, le terreau était traité avec RootShield Drench ou RootShield Granules, tel que proposé, puis infesté des pathogènes cibles *Pythium* ou *Rhizoctonia.* L'intervalle entre le traitement et l'inoculation variait généralement entre zéro et dix jours. Dans le cas des essais de *Fusarium*, les plants ont été semés en serre puis transplantés en champ, dans des sites infestés. L'évaluation des plants a porté sur l'apparition de signes de maladie, comme des plantes mortes ou du pourridié, et sur des facteurs de croissance comme la hauteur des plants, le poids frais, le poids séché de la partie supérieure du plant ou celui des racines ainsi que la qualité commerciale des plants de fleurs. Pour ce qui est des légumes, l'évaluation a porté sur la qualité et la quantité des produits. Les essais se sont faits avec une dose de 60 à 90 g de RootShield Drench dans 100 l d'eau (pour couvrir de 115 à 220 g/m^3 de terreau) ou de 560 à 600 g de RootShield Granules par m^3 de terreau.

En règle générale, les chercheurs ont trouvé que le fongicide biologique RootShield a un effet général positif sur la santé des plantes, même si cela ne s'est pas avéré évident dans le cas des variables mesurées. Le degré des avantages démontrés dans ces essais s'intitule, de façon appropriée, *suppression* plutôt que contrôle. Dans les essais sur le rhizoctonia, le fongicide en poudre mouillable RootShield Drench a permis une meilleure survie végétale (de 8 à 44 %) par opposition au stock inoculé témoin, ainsi qu'un meilleur poids et une légère augmentation de qualité des racines et des plantules dans le cas des plantes ornementales. Dans les essais sur pythium, RootShield a permis l'accroissement du poids des racines séchées et du poids des plantes fraîches de certaines variétés de plantes ornementales, en plus d'une récolte accrue de tomates. Les essais sur le fusarium ont indiqué une réduction de 25 à 57 % de pourriture du collet et des racines, et un accroissement des récoltes de tomates en champ traitées préalablement avec RootShield avant la transplantation. Un essai à l'aide de diverses méthodes de traitement a montré un accroissement du rendement des oignons transplantés après avoir été trempés dans une suspension de fongicide biologique en poudre mouillable RootShield Drench.

Les données soumises sur les fongicides biologiques RootShield Drench et RootShield Granules permettent de croire que ces produits pourraient supprimer les maladies causées par *Pythium, Rhizoctonia* et *Fusarium* et qu'ils pourraient rehausser la croissance plantulaire, tout particulièrement des racines, même en l'absence des pathogènes ciblés (groupes témoins non inoculés). Les résultats d'efficacité de ces essais se sont avérés variables; dans certains cas, l'effet du pathogène était peu mesurable, et dans d'autres, les traitements microbiens, tout comme les traitements chimiques, n'ont pas fonctionné ou ont causé une réduction de croissance. Cette variabilité est typique des produits bactériens, compte tenu de leur interaction avec d'autres organismes et l'environnement terreux. Néanmoins, les données positives étaient en nombre suffisant pour soutenir les déclarations de suppression de ces trois pathogènes sur les tomates et plantes ornementales de serriculture.

Divers facteurs semblent favoriser les produits RootShield et rehausser l'efficacité, notamment la date d'application. Les chercheurs ont remarqué qu'il faut implanter le produit bien avant le pathogène. Dans la pratique, cela peut vouloir dire de traiter le terreau avec le RootShield de 7 à 14 jours avant de s'en servir pour semer ou pour transplanter, ou encore de mouiller le terreau sur place, avec les plantules, dès qu'il est sécuritaire après un épandage de produits chimiques, afin de lui donner une longueur d'avance pour coloniser les racines avant que ne le fassent les pathogènes.

Tenant compte des données fournies, la suppression de *Rhizoctonia* et *Pythium* et *Fusarium* sur les tomates et de *Rhizoctonia* et *Pythium* sur les plantes ornementales par les fongicides RootShield Drench et RootShield Granules est corroborée. L'utilisation du produit pour lutter contre le fusarium sur les plantes ornementales est limité au mouillage et au trempage des bulbes (120 g/l). Il n'y avait pas de données d'efficacité sur les concombres; cependant, compte tenu des données sur les tomates et sur les poivrons, et de la gamme étendue des hôtes de ces trois pathogènes, on accepte aussi les énoncés

d'efficacité des produits RootShield sur les concombres, à titre provisoire. Le demandeur devra effectuer des essais de confirmation sur cette culture (voir ci-après).

L'utilisation du fongicide en poudre mouillable RootShield Drench comme produit sec (poudre non diluée) pour les boutures de plantes ornementales ou pour les racines nues à transplanter n'a pas été évaluée, et elle n'est pas acceptée. Les données étaient insuffisantes pour soutenir la dose la plus élevée du fongicide RootShield Granules (à raison de 800 g/m^3) sur toute culture.

Au Canada, en serriculture, le besoin le plus élevé d'un produit comme le RootShield concerne la production hydroponique (méthodes de culture à l'aide de laine minérale ou autre milieu nutritif liquide) de tomates et de concombres. L'étiquette proposée ne présente pas de directions particulières ou de doses d'application dans ces cultures. En fonction des résultats de deux essais préliminaires sur un substrat en laine minérale et du fait que la dose d'application ne devrait pas s'avérer aussi critique pour un agent microbien que pour un produit de lutte chimique, il est possible d'accepter l'utilisation du fongicide RootShield Drench en serriculture de tomates et de concombres, sur une base temporaire. Le serriculteur devra estimer les doses d'application en fonction du mode d'emploi dans le terreau, mais le demandeur devra procéder à des essais de confirmation sur les tomates ou les concombres et élaborer un mode d'emploi approprié à l'usage hydroponique, comme condition préalable à une homologation additionnelle.

Selon l'examen d'efficacité, le mode d'emploi proposé pour l'étiquette doit être revu (voir 9.2, Recommandations et modifications des étiquettes).

7.2 Phytotoxicité et pathogénicité pour les plantes cibles ou les produits végétaux cibles (OCDE 7.4)

Les essais n'ont pas porté sur la phytotoxicité des produits RootShield en l'absence de pathogènes du sol. Cependant, les résultats de quelques essais laissent croire qu'une interaction avec des pathogènes des racines peut occasionnellement causer des effets nocifs aux plantes. Il est impossible d'évaluer toutes les variétés de plantes ornementales lors d'essais de recherche; par conséquent, il est recommandé de faire l'essai préalable sur un petit échantillon de chaque nouvelle variété avant d'utiliser RootShield à une échelle commerciale.

7.3 Compatibilité avec les pratiques actuelles de lutte antiparasitaire, y compris la lutte intégrée

On estime RootShield compatible avec la plupart des produits chimiques courants en production serricole. Le producteur se voit référer au fabricant pour obtenir une liste de produits testés pour la compatibilité en conditions de laboratoire. Les méthodes d'application des fongicides RootShield exigent davantage de développements dans le cadre de leur utilisation au sein d'un système de lutte intégrée, mais les prévisions sont

que RootShield contribuera à la lutte contre les maladies sans effets nocifs sur d'autres outils de lutte intégrée, comme les insectes de lutte biologique et les pratiques sanitaires.

7.4 Contribution à la réduction des risques

RootShield contribue à la suppression et à la gestion des maladies des plantes qui pourraient autrement exiger des applications fréquentes de fongicides pour obtenir un contrôle adéquat. Cela permettra de diminuer le recours aux fongicides dans les serres, ce qui se traduit par une réduction de l'exposition de l'environnement, des aliments et des travailleurs.

7.5 Renseignements sur le développement réel ou potentiel de la résistance

L'agent microbien actif dans les produits RootShield ne devrait pas développer de résistance chez les pathogènes visés, compte tenu de son mode d'action étendu. Il aura pour principal rôle de concurrencer les pathogènes qui, autrement, pourraient atteindre des niveaux de population élevés autour des racines des plantes en culture et exiger alors de fréquentes doses de fongicides chimiques pour leur maîtrise, ce qui rehausserait les pressions sur ces pathogènes à développer de la résistance.

7.6 Conclusions

L'ARLA accepte les fongicides RootShield Drench et RootShield Granules pour la suppression de *Pythium, Rhizoctonia* et *Fusarium* sur les plantes ornementales, tomates et concombres de serriculture. Les doses acceptables selon l'étiquette sont de 60 à 90 g de poudre mouillable RootShield Drench dans 100 L d'eau (en fonction de 115 à 220 g/m^3 de terreau), 120 g/L comme trempage des bulbes de plantes ornementales ou de 600 g de RootShield Granules par m^3 de terreau. Le produit peut s'appliquer en suspension de poudre mouillable au terreau, au sol, aux plates-bandes ou dans d'autres milieux de culture, servir de trempette pour les bulbes de plantes ornementales ou par intégration granulaire au terreau.

Les données de confirmation de l'efficacité sont exigées comme condition d'homologation temporaire pour les déclarations de suppression de maladie chez les concombres et pour élaborer des modes d'emploi particuliers d'utilisation en production hydroponique. On prévoit que les produits RootShield contribueront de façon importante à la lutte contre la maladie des racines dans la production serricole.

8.0 Considérations liées à la Politique de gestion des substances toxiques

Au cours de l'examen du fongicide biologique en poudre mouillable RootShield Drench et du fongicide biologique RootShield Granules, l'ARLA a tenu compte de la Politique fédérale de gestion des substances toxiques (PGST), et suivi sa directive d'homologation

DIR99-03[1]. Elle a déterminé que ce produit ne répond pas aux critères de la Voie 1 de la PGST, parce que la matière active est un organisme biologique et, par conséquent, n'est pas assujettie aux critères utilisés pour définir les propriétés de persistance, de bio-accumulation et de toxicité des produits de lutte antiparasitaire chimique. En outre, la matière active (de qualité technique) ne renferme aucun sous-produit ou microcontaminant répondant aux critères de la Voie 1 de la PGST. Les impuretés de nature toxicologiques ne devraient pas être présentes dans les matières brutes, ni ne devraient être générées, au cours du processus de fabrication, en quantité suffisante pour présenter un risque pour la santé et la sécurité humaines. D'autre part, il n'y a aucun produit de formulation de nature toxicologique présent dans les formulations des préparations commerciales de poudre mouillable RootShield Drench et de RootShield Granules.

9.0 Décision réglementaire

La matière active du fongicide biologique technique RootShield et ses préparations commerciales, le fongicide biologique en poudre mouillable RootShield Drench et le fongicide biologique RootShield Granules, renfermant la souche KRL-AG2 de *Trichoderma harzianum* Rifai pour la suppression des maladies des racines des tomates, concombres et plantes ornementales de production serricole, ont reçu une homologation temporaire en vertu de l'article 17 du *Règlement sur les produits antiparasitaires*, à condition de produire les études suivantes :

- des données confirmatives d'analyse sur les métabolites secondaires;
- les essais de confirmation d'efficacité.

---

[1] La stratégie de l'ARLA pour l'exécution de la Politique de gestion des substances toxiques DIR99-03 est accessible par l'entremise du Service de renseignements sur la lutte antiparasitaire : par téléphone 1-800-267-6315 au Canada ou 1-613-736-3799 hors du Canada (il y aura des frais d'interurbain); par télécopieur 1-613-736-3798; par courriel (e-mail) à l'adresse pminfoserv@hc-sc.gc.ca ou à notre site Web, à l'adresse www.hc-sc.gc.ca/pmra-arla.

Liste des abréviations

ADN	acide désoxyribonucléique
AMLA	agent microbien de lutte antiparasitaire
ARLA	Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire
CE_{50}	concentration efficace 50 %
CFU	cellule souche unipotente
CNNS	cycloheximide - chlortétracycline - nystatine et sulfate de streptomycine (milieu pour gélose)
CPE	concentration prévue dans l'environnement
CSENO	concentration sans effet nocif observé
CSEO	concentration sans effet observé
CU	catégorie d'utilisation
DL_{50}	dose létale à 50 %
DS	délai de sécurité
EPA	Environmental Protection Agency (États-Unis)
EPI	équipement de protection individuelle
ICMSF	Commission internationale pour la définition des caractéristiques microbiologiques des aliments
IMI	indice maximum d'irritation
LMR	limite maximale de résidus
MAQT	matière active de qualité technique
pc	poids corporel
PC	préparation commerciale
PDA	gélose dextrosée à la pomme de terre
PGST	Politique de gestion des substances toxiques
PIPAFE	Programme d'importation de produits antiparasitaires en vue de la fabrication suivie de l'exportation
ps	poids sec
SEO	seuil d'effets observés
TSA	gélose trypsique, soja

Annexe I Tableaux récapitulatifs

Tableau 1 : Sommaire des études de toxicité et pathogénicité du fongicide biologique RootShield (*Trichoderma harzianum* souche KRL-AG2)

EXPÉRIENCE	ESPÈCES - SOUCHE ET DOSES	DL_{50}, CSEO/CSENO et SEO	ORGANE CIBLE - EFFETS IMPORTANTS - COMMENTAIRES
EXPÉRIENCE AIGUË			
Orale	Rats : Sprague Dawley, 13/sexe, approx. 10^8 CFU[1]/animal	$DL_{50} > 1,0 \times 10^8$ CFU/animal	Pas d'effet sur le gain de poids corporel et pas de signe clinique de toxicité, d'infectiosité ou de pathogénicité lié au traitement. Pas de mortalité. Agent éliminé du tube digestif dans les 2 jours suivants l'administration de la dose et non détecté dans l'urine, le sang ou les organes à aucun moment. Rien d'important relevé à l'autopsie. **FAIBLE TOXICITÉ ET AUCUNE PATHOGÉNICITÉ**
Pulmonaire	Rats : Sprague Dawley, 15/sexe, approx. 10^8 CFU/animal	$DL_{50} > 1,0 \times 10^8$ CFU/animal	Pas d' effet sur le gain de poids corporel et aucun signe clinique de toxicité. Pas de mortalité. L'autopsie a révélé des poumons tachetés chez 11 des rats ♂ et ♀ traités et un élargissement des poumons chez 6 rats des deux sexes traités. Les lésions correspondaient à la réponse immunitaire typique d'animaux sains à l'injection d'une dose élevée de matière étrangère (antigénique). On a constaté l'élimination hâtive de l'organisme d'essai dans les fluides corporels et son élimination des poumons au 21e jour - à la fin de l'épreuve. **FAIBLE TOXICITÉ ET AUCUNE PATHOGÉNICITÉ**
par injection	Rats : Sprague Dawley, 15/sexe, approx. 10^7 CFU/animal	$DL_{50} > 1,0 \times 10^7$ CFU/animal	Pas d' effet sur le poids et pas de signes apparents de toxicité ou de pathogénicité liée au traitement. Pas de mortalité. Le seul effet lié au traitement était une hypertrophie de la rate chez les animaux mâles et femelles considérée comme étant une réaction normale à une infection microbienne. Après l'injection, on a trouvé le microbe étudié principalement dans le foie, les poumons, la rate, les reins et le sang. On a observé des rates hypertrophiées chez 9 rats. Au 21e jour après le traitement, on a constaté une réduction radicale du nombre de micro-organismes testés et un patron distinct d'élimination de l'agent. **FAIBLE TOXICITÉ ET AUCUNE PATHOGÉNICITÉ**

EXPÉRIENCE	ESPÈCES - SOUCHE ET DOSES	DL_{50}, CSEO/CSENO et SEO	ORGANE CIBLE - EFFETS IMPORTANTS - COMMENTAIRES
EXPÉRIENCE AIGUË			
Toxicité dermale et irritation	Présentation de la justification de l'exemption d'études (au lieu de données)	sans objet	Compte tenu de l'absence de rapports d'effets nocifs chez les travailleurs qui fabriquent et utilisent ces préparations commerciales aux États-Unis; de la nature non toxique et de l'utilisation commerciale généralisée des ingrédients inertes de la formulation (produits de formulation); de la faible toxicité et l'absence de pathogénicité du micro-organisme actif lors des épreuves de toxicité aiguë, par voie orale, pulmonaire et intraveineuse, l'ARLA accepte d'exempter des essais requis les préparations commerciales RootShield Drench (poudre mouillable) et RootShield Granules. Par mesure de précaution, tous les travailleurs en serre qui seront exposés à ces produits pendant les étapes de préparation (mélange, remplissage) et les activités suivant l'application devront porter un équipement de protection individuelle adéquat (manches longues, pantalons longs, bas et souliers, gants imperméables) pour minimiser le contact avec la peau.
Irritation des yeux	Lapin : NZB, 6 mâles, 0,1 g de poudre technique (équivalant à 10^8 CFU/animal)	IMI[2]= 2,3/110 (après 1 heure)	Légère rougeur de la conjonctive observée dans tous les yeux traités après 1 heure. Tous les yeux semblaient cliniquement normaux après 72 heures et aucun autre signe d' irritation relevé pendant la période d'observation de sept jours. La poudre technique est légèrement irritante. Cependant, certains ingrédients de la formulation des préparations commerciales de RootShield sont aussi connus comme étant de légers irritants oculaires. On recommande le port de lunettes protectrices pour les manipulateurs et opérateurs afin de réduire le risque de contact avec les yeux. **MAQT - IRRITATION MINIMALE** **PC - LÉGÈRE IRRITATION**

[1] CFU = cellule souche unipotente
[2] IMI = indice maximum d'irritation

Tableau 2 : Effets du fongicide biologique RootShield (*Trichoderma harzianum* souche KRL-AG2) sur les organismes non visés

Organisme	Exposition	Substance expérimentée	Résultat final - Commentaires
Oiseaux : colins de Virginie	orale aiguë	Conidies de *T. harzianum* KRL-AG2	30-j DL_{50} > $4×10^9$ /kg pc (ou 11 110 mg m.a./kg pc) Pas de signe de toxicité ou de pathogénicité. Aucune mortalité. Comparés au contrôle il n'y avait pas d'effet observable sur le poids corporel ou la prise de nourriture des oiseaux. À l'autopsie, un des oiseaux du groupe traité présentait des glandes surrénales élargies, mais on n'a pas considéré cela comme étant lié au traitement puisque les glandes surrénales des 41 autres oiseaux traités semblaient normales. **DONNÉES SUPPLÉMENTAIRES** Les données et renseignements fournis sont insuffisants pour déterminer si la dose reçue par les oiseaux était viable. On n'exige pas d'expérience de remplacement compte tenu de l'absence d'effet nocif observable selon les sources publiées et le faible potentiel d'exposition aviaire des suites d'une utilisation en serre.
Oiseaux	Pulmonaire / Inhalation / Injection	Présentation de la justification de l'exemption d'études (au lieu de données)	La demande d'exemption se fondait sur les résultats d'expériences de toxicité aiguë pulmonaire chez les rats (voir le tableau 1) et orale chez les colins de Virginie (voir ci-dessus). Même si aucun effet nocif lié au traitement n'a été observé, ces résultats n'étaient pas suffisants pour appuyer la demande à cause de difficultés à extrapoler les résultats de l'étude orale aux études pulmonaires et les résultats des mammifères aux oiseaux. On a plutôt utilisé des sources publiées et l'usage proposé pour ces deux formulations (c.-à-d. en serre seulement) à l'appui de cette demande. Compte tenu de l'absence d'effet nocif dans les sources publiées et du faible potentiel d'exposition aviaire, cette demande d'exemption est **ACCEPTÉE**.
Mammifères sauvages	Aiguë	Présentation de la justification de l'exemption d'études (au lieu de données)	La demande d'exemption se fondait sur des références aux études toxicologiques préalablement soumises à l'ARLA pour l'homologation du fongicide RootShield Granules en vertu du PIPAFE. Tel qu'indiqué au chapitre 3, aucun signe de toxicité ou de pathogénicité n'a été relevé après administration orale ou intraveineuse de *T. harzianum* KRL-AG2 aux rats. On a observé des rates élargies chez les animaux traités après injection intraveineuse, toutefois cette observation est considérée comme une réaction immunologique normale à une substance étrangère. L'injection intratrachéale des organismes testés n'a pas donner lieu à des signes apparents de pathogénicité lié au traitement. En outre, on a trouvé que *T. harzianum* KRL-AG2 provoquait une irritation minime des yeux chez les lapins. Compte tenu de l'absence d'effets nocifs significatifs, cette demande d'exemption est **ACCEPTÉE**.

Organisme	Exposition	Substance expérimentée	Résultat final - Commentaires
Poissons	Aiguë	Présentation de la justification de l'exemption d'études (au lieu de données)	La demande d'exemption se fondait sur une brève analyse bibliographique décrivant les occurrences naturelles d'espèces de *Trichoderma*. Même s'il est très répandu dans la plupart des environnements terrestres, seuls quelques documents cités font référence à des cas de récupération d'une espèce quelconque de *Trichoderma* dans des environnements aquatiques et ce cas, à l'exception d'un seul, impliquaient des eaux polluées. Un document faisait référence à l'isolation de *T. harzianum* d'une éponge de mer. Compte tenu de l'incapacité apparente de *T. harzianum* à coloniser les eaux non polluées et en l'absence d'effet nocif observé chez les poissons dans les sources publiées, cette demande d'exemption est **ACCEPTÉE**.
Arthropodes	Aiguë	Présentation de la justification de l'exemption d'études (au lieu de données)	La demande d'exemption se fondait sur des documents publiés. Il n'existe aucune référence de cas où *T. harzianum* a causé une infection ou toute autre impact sur les insectes ou autres invertébrés. Dans un article publié, on rapporte aucun effet nocif sur des abeilles domestiques traitées avec *T. harzianum* T-39. Dans un autre article, on a utilisé les abeilles domestiques et les bourdons pour disséminer *T. harzianum* KRL-AG2 et ce sans effet nocif. D'autres documents soulignent que des insectes et surtout des acariens consomment les hyphes des espèces de *Trichoderma*. Compte tenu de l'absence d'effet nocif dans les sources publiées, cette demande d'exemption est **ACCEPTÉE**.
Invertébrés (non-arthropodes)	Aiguë	Présentation de la justification de l'exemption d'études (au lieu de données)	La demande d'exemption se fondait sur des documents publiés. Il n'existe aucune référence de cas où *T. harzianum* a causé une infection ou toute autre impact sur les insectes ou d'autres invertébrés, y compris les non-arthropodes. Dans un des articles publiés, les vers de terre ont été nourris avec un milieu infesté de *T. harzianum* T3a sans effets nocifs. Compte tenu de l'absence d'effet nocif dans les sources publiées, cette demande d'exemption est **ACCEPTÉE**.
Micro-organismes	Aiguë	Présentation de la justification de l'exemption d'études (au lieu de données)	La demande d'exemption se fondait sur des documents publiés. Les sources publiées font état de souches agressives de *T. harzianum* comme agent causant la « moisissure verte ». Ces souches ont été regroupées en deux biotypes nommés TH2 et TH4, selon la séquence des gènes ribosomiques. Des études sur les séquences de plusieurs souches de *T. harzianum* pour la lutte biologique indiquent qu'elles appartiennent à un troisième biotype nommé TH1. Le biotype de *T. harzianum* KRL-AG2 n'est pas précisé dans cette expérience, cependant cette information n' a pas été considérée comme essentielle pour son examen puisqu'il ne sera pas utilisé dans les champignonnières commerciales. Comme il n'y a pas d'autres rapports sur des effets nocifs dans les sources publiées, cette demande d'exemption a été **ACCEPTÉE** à condition qu'une inscription de mise en garde soit placée sur l'étiquette pour prévenir la distribution par les serriculteurs de matières végétales traitées à titre de substrat aux producteurs de champignons.

Organisme	Exposition	Substance expérimentée	Résultat final - Commentaires
Plantes	Aiguë	Présentation de la justification de l'exemption d'études (au lieu de données)	La demande d'exemption se fondait sur des documents publiés. Même si *T. harzianum* est un organisme très répandu dans la plupart des environnements terrestres, on signale rarement d'espèces de *Trichoderma* sur les plantes vivantes. De plus, on considère faible sa capacité à attaquer du bois vivant ou des plantes malgré sa capacité à produire des enzymes puissants et des métabolites secondaires ayant des activités de régulateur de croissance des plantes. Même s'il est possible que ces concentrations d'enzymes et de métabolites puissent augmenter au-dessus des niveaux phytotoxiques tout de suite après l'inoculation directe aux plantes non visées, on ne s'attend pas à ce que de tels cas se produisent avec l'emploi proposé pour ces préparations commerciales dans les serres. Cette demande d'exemption a été **ACCEPTÉE**.